

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Veronika Chaloupková

Inaktivace chromosomu X u lidí s abnormální sestavou gonosomů

X chromosome inactivation in human with abnormal gonosomal assembly

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Roman Šolc, Ph.D.

Praha, 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne:

Podpis

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Romanu Šolcovi, Ph.D. za jeho vstřícnost, trpělivost a mnoho cenných rad. Dále pak Anetě Nigrinové za neocenitelnou podporu a v neposlední řadě děkuji svému příteli a rodině, kteří mi byli oporou a bez nichž by tato práce nemohla vzniknout.

Abstrakt

Inaktivace chromosomu X je způsob genetické regulace vyvinutý u savců, který má za úkol vyrovnat genetickou dávku mezi pohlavními chromosomy samců (XY) a samic (XX). Během embryonálního vývoje samic je jeden chromosom X inaktivován (v buňce je poté detekovatelný jako tzn. Barrovo tělísko), zatímco druhý zůstává aktivní. Celý proces je řízen geny z X inaktivačního centra. Zároveň se ukazuje, že některé geny z inaktivovaného chromosomu inaktivaci unikají a i nadále v buňce dochází k jejich expresi. To by mohla být příčina odlišného fenotypu jedinců s aneuploidií heterochromosomů. Tato práce shrnuje dosavadní znalosti o průběhu a regulaci inaktivace chromosomu X u lidí s abnormální sestavou gonosomů a porovnává je s průběhem inaktivace u zdravých žen.

Klíčová slova: inaktivace chromosomu X, aneuploidie gonosomů, Klinefelterův syndrom, trisomie, pentasomie

Abstract

X chromosome inactivation is the process of genetic regulation of mammals, which is designed to balance the genetic dose between male sex chromosomes (XY) and female sex chromosomes (XX). During embryonic development in females, one of the two X chromosome is inactivated and that it's detected in the cell as a Barr body. The other chromosome remains active. The whole process is controlled by genes from the X inactivation center. At the same time, we can see that some genes from the inactivated chromosome can escape and they continue in creating their products. That could be the cause of different phenotype of individuals with heterochromosome aneuploidy. This work summarized the current knowledge of the process and regulation of X chromosome inactivation in people with abnormal set of gonosomes and compares them to the inactivation process in healthy woman.

Key words: X chromosome inactivation, gonosomes aneuploidy, Klinefelter syndrome, trisomy, pentasomy

Seznam zkratek v anglickém jazyce

AR	androgen receptor
BrdU	5-bromodeoxyuridine
CpG	cytosine-phosphate-guanosine
Ezh2	histone-lysine N-methyltransferase
FTX	gene encodes lncRNA, its name comes from five prime to Xist gene
H3K27me3	histone H3 trimethyl lysine 27
H3K4me2	histone H3 dimethyl lysine 4
ICM	inner cell mass
JPX	just proximal to Xist gene
KS	Klinefelter syndrome
lncRNA	long non-coding RNA
NANOG	pluripotency factor's name comes from Tir Na Nog - mythologic Celtic land
OCT4	octamer-binding transcription factor 4
PCR	polymerase chain reaction
PRC2	Polycomb repressive complex 2
Rep-A	repeat adenosin
RNF12	ring finger protein 12
SHOX	short stature homeobox gene
SOX2	SRY-box 2 protein
TEX11	testis expressed gene 11
TSIX	X (inactive)-specific transcript, antisense
Xa	active X chromosome
XACT	X active coating transcript
Xce	X control element
XCI	X-chromosome inactivation
Xi	inactive X chromosome
XIC	X-inactivation center
XIST	X inactivation specific transcript
Xite	X-inactivation intergenic transcription element
Xm	maternal X chromosome
Xp	paternal X chromosome
Xpr	X pairing regio

Seznam zkratek v českém jazyce

AR	androgenní receptor
BrdU	5-bromodeoxyuridin
CpG	cytosin-fosfát-guanosin
Ezh2	histon-lysin N-metyltransferáza
FTX	gen kódující lncRNA, jejíž jméno pochází z anglického five prime to Xist gene
H3K27me3	trimetylovaný lysin 27 histonu H3
H3K4me2	dimetylovaný lysin 4 histonu H3
ICM	vnitřní buněčná masa
JPX	gen lokalizovaný proximálně od Xist
KS	Klinefelterův syndrom
lncRNA	dlouhá nekódující RNA
NANOG	název pluripotentního faktoru pochází z keltské mytologie - Tir Na Nog
OCT4	transkripční faktor 4 vážící se k oktamerovému DNA motivu
PCR	polymerázová řetězcová reakce
PRC2	represivní komplex 2 ze skupiny Polycomb
Rep-A	repetice bohatá na adenosin
RNF12	prstencový prstový protein 12
SHOX	gen související s malou postavou a obsahující homeobox 2
SOX2	protein SRY -box 2
TEX11	gen 11 exprimovaný varlaty
TSIX	antisence transkript specifický pro inaktivní X
Xa	aktivní chromosom X
XACT	transkript obalující aktivní X
Xce	X kontrolní element
XCI	inaktivace chromosomu X
Xi	inaktivovaný chromosom X
XIC	inaktivační centrum chromosomu X
XIST	transkript specifický pro inaktivaci X
Xite	intergenní transkripční element účinkující v inaktivaci chromosomu X
Xm	chromosom X pocházející od matky
Xp	chromosom X pocházející od otce
Xpr	X párovací oblast

Obsah

1. Úvod	1
2. Inaktivace chromosomu X.....	2
2.1. Historie.....	2
2.2. Regulace.....	4
2.2.1. X inaktivační centrum (XIC).....	5
2.2.2. Gen <i>XIST</i>	5
2.2.3. Regulace <i>XIST</i>	7
2.3. Geny unikající inaktivaci chromosomu X	9
3. Inaktivace chromosomu X u abnormální sestavy gonosomů	12
3.1. Klinefelterův syndrom	12
3.2. Trisomie XXX	14
3.3. Triploidie	16
3.4. Pentasomie chromosomu X	21
4. Závěr.....	23
5. Použitá literatura.....	24

1. Úvod

Jednotlivé živočišné druhy mají různý způsob určování pohlaví a odlišné mechanismy zajišťující vyrovnání genetické dávky mezi samcem a samicí. Od roku 1961 je znám proces, který zajišťuje vyrovnání genetické dávky mezi samcem (XY) a samicí (XX) savců včetně člověka. Tento mechanismus je znám jako inaktivace chromosomu X, někdy též lyonizace podle své objevitelky Mary F. Lyon (Lyon, 2007).

Během tohoto procesu dochází v ranném embryonálním vývoji k náhodné inaktivaci jednoho samičího chromosomu X. Inaktivace je u člověka řízena z oblasti Xq13, která byla nazvána X inaktivační centrum. Zde leží gen *XIST* a jeho regulátory, které zodpovídají za správný průběh XCI (Brown et al., 1991).

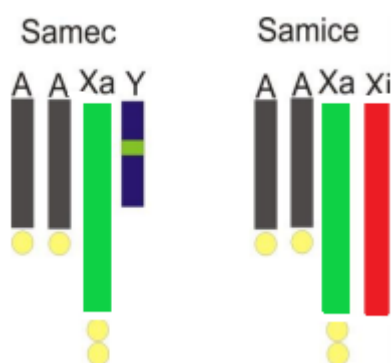
Předpokládalo se, že po inaktivaci chromosomu X, jsou všechny geny transkripčně umlčeny a netvoří žádný produkt. V průběhu času se ale ukázalo, že některé geny inaktivaci unikají a i nadále se exprimují. U člověka XCI uniká zhruba 15 % genů a většina z nich je lokalizována v pseudoautosomální oblasti 1 (Carrel et Willard, 2005). Z tohoto důvodu by mohlo být zajímavé studium inaktivace chromosomu X u jedinců s abnormální sestavou gonosomů, kteří mají nadpočetný jeden či více chromosomů X.

Cílem této práce je zhodnotit, zda u aneuploidii gonosomů také dochází k inaktivaci chromosomu X. V případě, že ano je cílem zjistit, zda v těchto případech probíhá XCI stejně, nebo se v něčem liší.

2. Inaktivace chromosomu X

2.1. Historie

Inaktivace chromosomu X je proces známý od roku 1961, kdy ho poprvé popsala britská genetička Mary F. Lyon. Jedná se o proces, při kterém je u samic savců během embryonálního vývoje náhodně inaktivován jeden ze dvou chromosomů X. Je to neobvyklý způsob genetické regulace, který se vyskytuje pouze u savců a má zajistit vyrovnání genetické dávky mezi samicí (s gonosomální sestavou XX) a samcem (s gonosomální sestavou XY) (Lyon, 2007).



Obr. 1: Vyrovnání genetické dávky mezi samčím a samičím pohlavím. Po inaktivaci jednoho chromosomu X mají samec i samice dvě sady autosomů, jeden aktivní chromosom X a samec má navíc jeden chromosom Y, který ale obsahuje jen velmi málo genů. Převzato a upraveno od Heard et al., 2006.

K tomuto objevu významně přispěli i další vědci, díky jejichž závěrům mohla Lyon svou hypotézu publikovat. Již v roce 1949 objevili Barr a Bertram malou černou tečku, která se nacházela v jádrech samičích buněk savců. Tuto tečku označili jako pohlavní chromatin, dnes známý také jako Barrovo tělísko (Lyon, 2007).

V roce 1960 se japonskému vědci Susumu Ohnovi podařilo objasnit, co se pod pojmem pohlavní chromatin skrývá. Ohno si všiml, že během profáze mitotického dělení se chromosomy X kondenzují do stejných teček a že pohlavní chromatin je zřejmě tvořen permanentně kondenzovaným chromosomem X (Lyon, 2007).

Tato zjištění využili Welshons a Russell při formulaci výsledků svého pozorování myších samic, na které Mary F. Lyon navázala s výsledky svých pozorování a roku 1961 zveřejnila svou hypotézu inaktivace chromosomu X (Lyon, 1961).

Lyon v roce 1960 zkoumala X-vázaný gen, který u heterozygotních samic podmiňoval zvláštní skvrnité zbarvení. Během pokusů objevila v jinak normálně zbarveném vrhu samce, který měl stejné skvrnité zbarvení. Dalším křížením zjistila, že samec nese mutaci genu, který se předává pouze samicím a u samců je jeho nosičství letální. Zajímala se tedy o to, z jakého důvodu původní samec přežil, a došla k závěru, že se jedná o spontánní mutaci, ke které došlo během embryonálního vývoje v jedné z buněk. Samec přežil, protože měl většinu buněk bez této mutace. To ji přivedlo k myšlence podívat se na to, zda zvláštní skvrnitá barva u samic také nesouvisí s jejich embryonálním vývojem (Lyon, 2007).

V ten samý rok Welshons a Russell publikovali svou práci se zjištěním, že samice myši s jedním chromosomem (X0) se vyvíjí stejně jako samice se dvěma chromosomy X, a dokonce se mohou dále rozmnožovat. To vedlo k hypotéze, že pro správný vývoj a funkci samičího organismu stačí pouze jeden chromosom X. Lyon spojila všechny dosavadní poznatky se svým výzkumem a v roce 1961 publikovala svou hypotézu, že u samic myši dochází během embryonálního vývoje k inaktivaci jednoho chromosomu X, který se poté v buňce nachází ve formě pohlavního chromatinu (Lyon, 2007).

Lyon předpokládala, že by tato hypotéza mohla platit pro všechny savce. Po dalším výzkumu publikovala v roce 1962 druhou část své práce, ve které se zabývala aplikací své teorie na všechny savce včetně člověka. Zjistila, že by inaktivace chromosomu X mohla podmiňovat vznik některých chorob. A dále to, že neplatí, že se inaktivuje právě jeden chromosom X. Důležité je naopak to, aby pouze jeden chromosom X zůstal aktivní, zatímco ostatní se inaktivují. Všimla si totiž, že u lidí s abnormální sestavou gonosomů (XXY, XXX, X) je počet Barrových tělísek, vždy o jedno nižší, než je počet chromosomů X (Lyon, 2007).

Z toho by vyplývalo, že lidé s abnormální sestavou gonosomů, kteří mají funkční alespoň jeden chromosom X, by neměli mít žádné potíže. Tento předpoklad byl ale mylný, jelikož se vědělo, že u lidí s karyotypem 45,X je převážná většina plodů potracena a děti, které se narodí, trpí Turnerovým syndromem (Lyon, 2007).

Již v 60. letech si Ohno všiml, že jsou na inaktivovaném chromosomu X oblasti, které jsou během embryonálního vývoje aktivní. To ho přivedlo k závěru, že pro správný vývoj plodu je nutné, aby byly aktivní oba chromosomy X a že pouze u somatických buněk stačí, aby byl aktivní jen jeden chromosom. A to je zřejmě důvod, proč u aneuploidií heterochromosomů často dochází ke sterilitě (Lyon, 1992).

To vedlo k myšlence, že zřejmě existují některé geny, které inaktivaci unikají (Lyon, 1992). V roce 2005 Carrel a Willard zjistili, že až 25-30 % genů částečně nebo úplně inaktivaci uniká (Carrel et Willard, 2005).

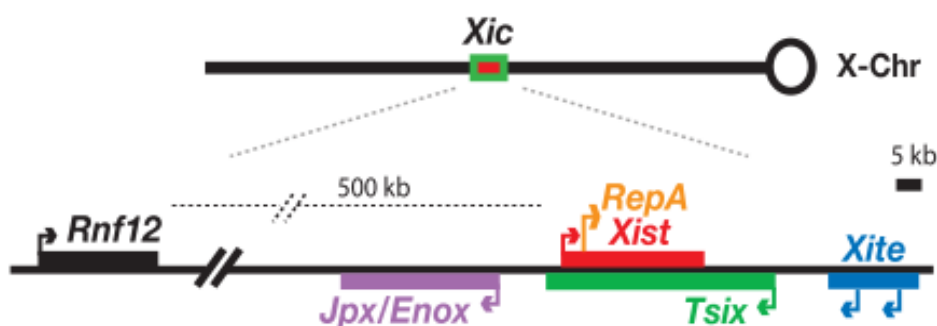
2.2. Regulace

Proces inaktivace chromosomu X (XCI) můžeme rozdělit do tří částí. První z nich je počítání (mechanismus, díky kterému se zjistí, jaký je v buňce počet chromosomů X vůči počtu autosomů). Druhým je volba (mechanismus během kterého je náhodně vybrán jeden z chromosomů X, který bude inaktivován). A třetím je iniciace inaktivace vybraného chromosomu. Ta probíhá v následujících mitotických děleních, během kterých dochází ke stabilnímu transkripčnímu umlčení, které je již nezávislé na *XIST* (Monkhorst et al., 2008).

U myši má inaktivace dvě fáze: v prvním kroku je inaktivován chromosom pocházející od otce (Xp) a v druhém dochází k náhodné inaktivaci. Inaktivace Xp je zahájena velmi brzy po oplození, ale pouze v extraembryonální tkáni, nikoliv ve vnitřní buněčné mase. Krátce po první fázi začne inaktivace i ve vnitřní buněčné mase, zde už je ale proces náhodný. To znamená, že některé inaktivované chromosomy X pochází od matky a jiné od otce (Barakat et al., 2011).

2.2.1. X inaktivační centrum (XIC)

Brown a spol. v roce 1991 objevili, že se na všech chromosomech X nachází sekvence, kterou označili jako X inaktivační centrum, o jejíž existenci se už nějakou dobu vedly diskuze. V této sekvenci, která u lidí leží na dlouhém raménku chromosomu X v oblasti Xq13, se nachází geny potřebné ke spuštění a regulaci inaktivace chromosomu X (Brown et al., 1991).



Obr. 2: X inaktivační centrum s geny, které spouští a regulují inaktivaci chromosomu X. Převzato z Tian et al., 2010.

Dále si představíme některé z těchto genů. Nejdůležitějším genem pro průběh XCI je gen *XIST* (X inactivation specific transcript), bez kterého by nemohla XCI vůbec proběhnout. Další zde zmíněné geny jsou regulátory genu *XIST* a zajišťují buď jeho aktivaci, nebo represi.

2.2.2. Gen *XIST*

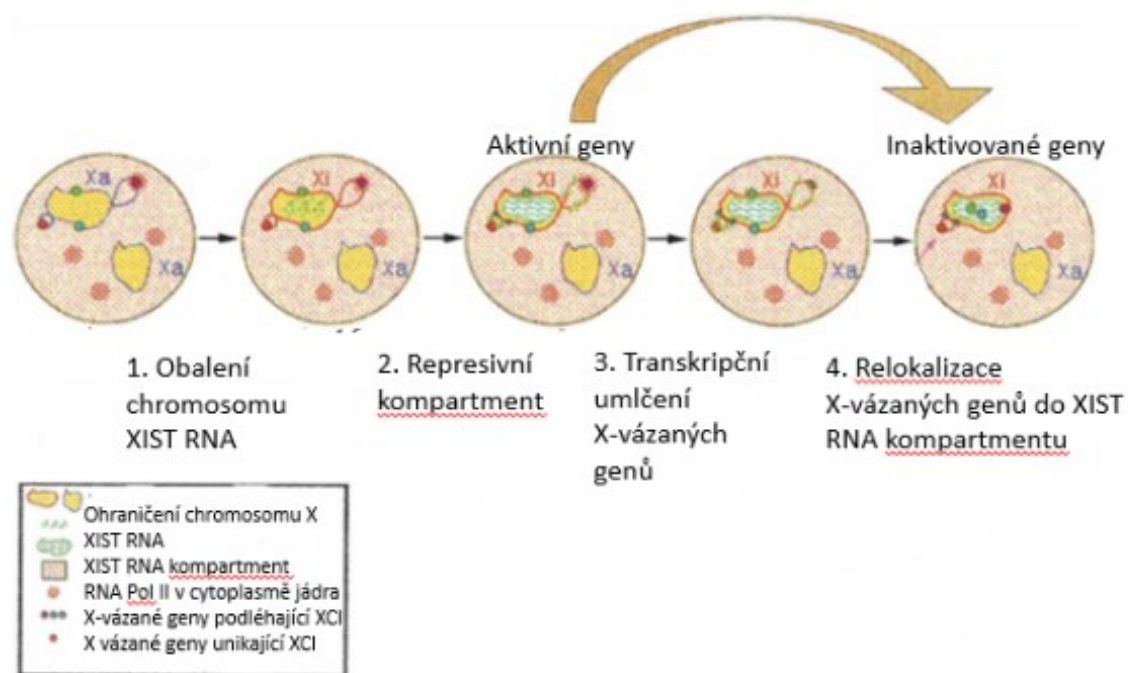
Bylo zjištěno, že některé geny unikají inaktivaci a jsou exprimovány jak z aktivního, tak inaktivovaného chromosomu (Brown et al., 1991). V některých případech je exprese produktu z inaktivovaného chromosomu o něco nižší. Při zkoumání množství produktu genu *XIST* metodou PCR bylo zjištěno, že inaktivní chromosom exprimoval gen *XIST*, zatímco aktivní ne. K ověření těchto výsledků byly použity vzorky ženy s Turnerovým syndromem (X0) a muže s Klinefelterovým syndromem (XXY). PCR těchto vzorků potvrdilo, že nezávisle na pohlaví se gen *XIST* exprimuje pouze z inaktivního chromosomu X. Z toho vyplynulo, že má zřejmě velký vliv na průběh inaktivace (Brown et al., 1991).

XIST působí na nediferencované embryonální kmenové buňky, u kterých potlačuje transkripci. U diferencovaných buněk už tuto schopnost nemá, a proto jsou nediferencované

kmenové buňky vhodným materiálem pro získávání nových poznatků v oblasti zahájení samotné inaktivace (Wutz et al., 2002).

XIST kóduje dlouhou nekódující RNA (lncRNA) o délce 17 kb. Tyto lncRNA se spojují a tvoří síť, která působí v cis (lncRNA je cis regulátor, který ovlivňuje transkripci na stejné molekule, na které je sám lokalizován) a obalí chromosom X, a tím způsobí jeho transkripční umlčení. V transkriptu *XIST* se nachází 5 oblastí s charakteristickými repeticemi, které jsou označeny písmeny A-E. Zatím se neví, jak přesně RNA *XIST* navozuje inaktivaci, ale ze studií zabývajících se poškozováním RNA *XIST* vyplývá, že klíčovou roli pro správnou funkci má sekvence A, ležící na 5' konci genu. (Wutz et al., 2002).

V roce 2006 Chaumeil se svým týmem zjistil, že transkript *XIST* má další funkci, která je nezávislá na repetitivní oblasti A. Na chromosomu X, který má být inaktivován, se začnou akumulovat RNA *XIST* a umožní, aby uvnitř jádra vznikl kompartment. Do kompartmentu jsou přeměrovány X-vázané geny, které mají být umlčeny a z kompartmentu je vyloučena RNA polymeráza II a transkripční faktory. Tím se zajistí transkripční umlčení genů (Chaumeil, 2006). Během transkripčního umlčení X-vázaných genů tedy dochází k 3D reorganizaci chromosomu X. I těchto přestaveb se účastní RNA *XIST*. Z tohoto důvodu je gen *XIST* dnes zkoumán v mnoha studiích, které se snaží odhalit mechanismus inaktivace (Marahrens et al., 1997).



Obr. 3: Model inaktivace chromosomu X zprostředkované pomocí *XIST* RNA. Na začátku jsou oba chromosomy X aktivní (znázorněno žlutě). Během časně embryogeneze se na budoucím inaktivovaném chromosomu X začne akumulovat *XIST* RNA. Vznik umlčovacího kompartmentu je spojen s vyloučením transkripčních faktorů a represí oblastí, které jsou bohaté na repetice. Tento krok je nezávislý na A-repeticích. K umlčení X vázaných genů je již potřeba mechanismus, který je závislý na A-repeticích. Dále se na umlčení genů podílí modifikace histonů a akumulace PRC2 a PRC1. Poté jsou geny relokalizovány do kompartmentu tvořeného *XIST* RNA a tím je umlčena jejich transkripce.

Převzato z Chaumeil, 2006

2.2.3. Regulace *XIST*

Byly provedeny dva pokusy, během kterých se některé úseky genu *XIST* vystříhly, nebo naopak přenesly na jiný chromosom a zkoumalo se jaká je regulace genu *XIST*. V prvním případě se na chromosomu X provedla delece o délce 58 kb obsahující i oblast genu *XIST* a zjišťovalo se jaký vliv má na inaktivaci chromosomu X přítomnost druhé alely. Tento pokus ukázal, že ke spuštění inaktivace na nepoškozeném chromosomu X stačí přítomnost pouze jedné sekvenční genu *XIST* (Monkhorst et al., 2008). Při druhém pokusu se do samčích embryonálních kmenových buněk přenesla 460 kb dlouhá jednovláknová kopie genu *XIST*. Na základě předchozího pokusu se předpokládalo, že tato jednovláknová kopie bude schopna během diferenciace aktivovat *XIST*, to se ale nestalo. To naznačuje, že důležitá *XIST* sekvenční, která je potřebná k tomu, aby v buňkách mohla proběhnout inaktivace, leží mimo sekvenční *XIST*

a v tomto fragmentu DNA chybí. Proto se začaly zkoumat X-vázané lokusy v blízkosti *XIST*, které by se mohly podílet na aktivaci *XIST* během náhodné XCI (Heard et al., 1999).

U samic myši se totiž zjistilo, že dva chromosomy X mají stejnou šanci na to být vybrány pro XCI, ale tato šance může být ovlivněna alelami X vázaných X kontrolních elementů (Xce), které mohou způsobit, že inaktivace u heterozygotů nebude náhodná. Byly objeveny nejméně tři alely Xce, které u heterozygotů posunují rovnováhu systému (Tien et al., 2010).

2.2.3.1. Gen *FTX*

FTX je jedním z genů, které unikají inaktivaci, a funguje jako pozitivní regulátor genu *XIST*. Kóduje lncRNA, která ovlivňuje expresi *XIST* a strukturu chromatinu uvnitř X inaktivačního centra. Gen *FTX* má ve své blízkosti klastry microRNA, které se spolu s genem v průběhu evoluce zakonzervovaly v genomu. Dobře zakonzervovaný je především jeho 5' konec, který byl předmětem zkoumání u třech zástupců savců (myš, kráva a člověk). Ukázalo se, že se liší délky sekvencí i počty exonů. U myši je tato oblast dlouhá 63 kb a obsahuje 15 exonů, u krávy je to 82 kb a 15 exonů a u člověka se jedná o 330 kb a 12 exonů. Díky alternativním počátkům a terminátorům transkripce a možnosti alternativního sestřihu dává gen *FTX* vznik mnoha různým transkriptům, které zůstávají v jádře a zatím nemají jasnou funkci. Už teď je ale zřejmé, že je gen exprimován během diferenciací samičích embryonálních buněk a poškození nebo ztráta jeho exprese má za následek strukturální změnu chromatinu (Chureau et al., 2010).

2.2.3.2. Gen *JPX*

Gen *JPX* je dalším z aktivátorů *XIST*. V případě, že dojde k jeho delecii, je blokována i samotná inaktivace a tento stav je pro ženu letální. Leží 10 kb proti směru transkripce genu *XIST* a je transkribován v opačném směru. Jeho produktem je opět lncRNA, která aktivuje gen *XIST* díky tomu, že na něj působí v trans (lnc RNA je trans regulátor, který ovlivňuje transkripci na jiné molekule, než na které je sám lokalizován). *JPX* uniká inaktivaci, stejně jako gen *FTX*, a jeho funkcí je aktivace *XIST* na chromosomu X, který bude později inaktivován. Děje se tak díky spolupráci *JPX* s repetiční oblastí A, která leží na genu *XIST*. Z tohoto důvodu se gen exprimuje pouze na budoucím inaktivovaném chromosomu, protože ani na aktivním chromosomu, ani na chromosomu muže není potřeba aktivovat *XIST* (Tian et al., 2010).

2.2.3.3. Gen *RNF12*

Gen *RNF12* leží 500 kb ve směru 5' za genem *XIST* proti směru jeho transkripce. Tento gen produkuje faktor *RNF12* s ubiquitin-ligasovou aktivitou a je prvním nalezeným X-vázaným aktivátorem genu *XIST* (Barakat et al., 2011). Působením *RNF12* během diferenciac embryonálních kmenových buněk dojde k obalení chromosomu X. K tomu je zapotřebí dosáhnout prahové hodnoty exprese genu *RNF12*. Při dostatečném množství může aktivovat *XIST*. Zatím není znám přesný mechanismus aktivace *XIST* faktorem *RNF12*. V současné době se předpokládá, že by ubiquitin-ligasová aktivita mohla degradovat represor *XIST* (Jonkers et al., 2009).

Oba chromosomy X musí tvořit produkt genu *RNF 12*, aby byla překročena prahová hodnota a mohlo dojít k obalení budoucího inaktivního chromosomu a současně k aktivaci jeho genu *XIST*.

2.2.3.4. Gen *TSIX*

Gen *TSIX* leží v opačné orientaci ke genu *XIST* a tvoří 30 kb dlouhou RNA, která se vyskytuje pouze v jádře a není dále translatována (Migeon et al., 2001). Tento gen je tvořen fetálními buňkami a je transkribován pouze z inaktivního chromosomu X. Je to protějšek myšího genu *Tsix*, který tvoří 40 kb dlouhou RNA a v průběhu inaktivace chromosomu X chrání budoucí inaktivovaný chromosom X. A zároveň funguje myší *Tsix* jako negativní regulátor *Xist* (Lee et al., 1999). Srovnání těchto dvou genů ukázalo, že je gen *TSIX* kratší a chybí na něm důležité regulační elementy. V průběhu evoluce zřejmě došlo na 5' konci *TSIX* ke zlomu, a proto na něm chybí exon 1, 2 a CpG bohatá oblast. To je zřejmě důvod, proč nemá lidský *TSIX* stejnou funkci jako myší *Tsix* a je to jen relikv původně funkčního genu (Migeon et al., 2002).

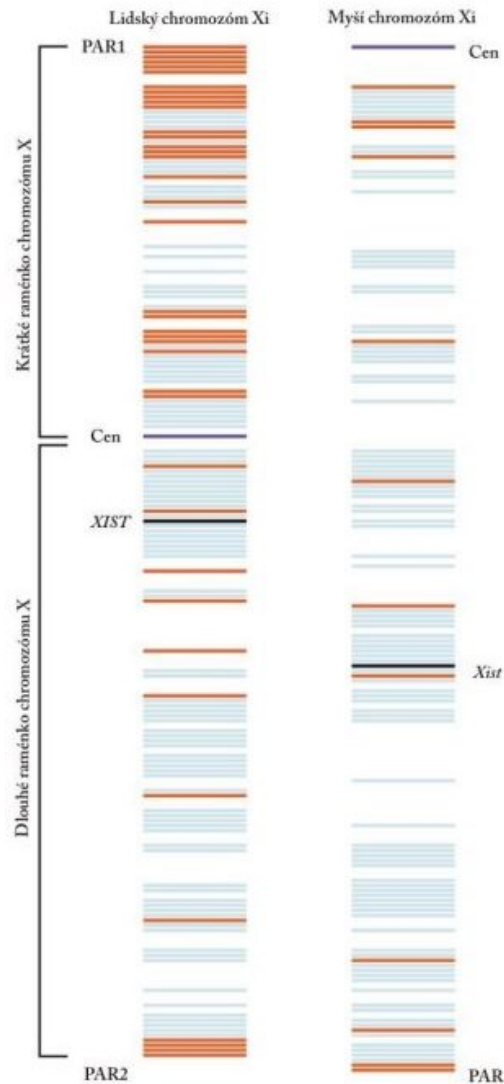
2.3. Geny unikající inaktivaci chromosomu X

Jak již bylo zmíněno výše, existují některé geny, které unikají procesu XCI. U člověka z inaktivovaného chromosomu X uniká zhruba 15 % genů. Z toho 1,5 % genů leží v pseudoautosomální oblasti a zbylých 13,5 % genů se nachází v heterogenní části chromosomu X (Carrel et Willard, 2005). Zde začíná být problém s myším modelem, protože u myši uniká procesu XCI pouze 3,3 % genů (Yang et al., 2010).

Liší se i umístění jednotlivých genů, a to především kvůli tomu, že myš má na rozdíl od člověka telocentrický chromosom X, u kterého je centromera umístěna na konci chromosomu X a nebrání volnému šíření *Xist* podél celého chromosomu X. Člověk má naopak

submetacentrický chromosom, u kterého je centromera posunuta od středu směrem ke konci jednoho z ramen, a díky svému heterochromatinovému složení tvoří bariéru proti šíření sítě z *XIST* RNA na krátké raménko. Z tohoto důvodu jsou geny unikající procesu XCI u člověka lokalizovány na krátkém raménku chromosomu X, kde tvoří klastry. Tato oblast zároveň vykazuje nejvýraznější homologii s chromosomem Y (Carrel et Willard., 1999; 2005). U myši se také nachází pseudoautosomální oblast, která je homologická s chromosomem Y, ale na rozdíl od člověka se mezi jednotlivými druhy velmi liší jak svou délkou, tak strukturou (White et al., 2012).

Myši s karyotypem 39,X mají méně závažné fenotypové projevy než ženy s TS. Abnormální fenotyp u myši s karyotypem X0 zahrnuje mírný deficit v chování, mírnou redukci fertility a postnatální růstovou retardaci. Abnormální fenotypové projevy u myši X0 jsou způsobeny haploinsuficí genů, které unikají procesu XCI (Yang et al., 2010).



Obr. 4: Na obrázku je porovnání distribuce genů na lidském a myším chromosomu X. Geny, které se inaktivují jsou znázorněny modře a geny, které inaktivaci unikají jsou znázorněny oranžově. Černě je označena poloha genu XIST/Xist a fialově poloha centromery. U člověka se většina genů unikajících XCI nachází v pseudoautosomální oblasti 1 (PAR1), zatímco u myši jsou geny nepravidelně roztroušeny po celém chromosomu X. Obrázek potvrzuje výsledky Carrelové a Willarda, které poukazují na to, že u lidí uniká inaktivaci několikanásobně více genů než u myši. Při studiu tohoto jevu tudíž není příliš vhodné používat myší model, protože se výsledky mohou oproti lidskému chromosomu X výrazně lišit.

Převzato z Kašíková, 2013

3. Inaktivace chromosomu X u abnormální sestavy gonosomů

Aneuploidie heretochromosomů je skupina chromosomových poruch, které se vyznačují tím, že chybí nebo přebývá jeden nebo více pohlavních chromosomů. Nejčastější příčinou je nondisjunkce chromosomů, ke které může dojít během meiózy, nebo v průběhu časného embryonálního vývoje (Disteche, 2012). Ztráta nebo nadbytek genetického materiálu může postihnout všechny buňky, nebo jen jejich část, čímž může vzniknout mosaicismus. Také se zde uplatňuje proces inaktivace chromosomu X, který má za úkol inaktivovat všechny chromosomy až na jeden. To je důvod vzniku charakteristických fenotypů, které vznikají v důsledku nerovnováhy genů unikajících inaktivaci chromosomu X. Na chromosomu X je lokalizováno 842 kódujících a 629 nekódujících genů. Zatímco na chromosomu Y pouze 71 kódujících a 109 nekódujících genů. Na chromosomu X a Y jsou krátké homologní úseky známé jako pseudoautosomální oblast, kde se během meiózy můžou chromosomy spárovat (Skuse et al., 2018). V pseudoautosomální oblasti 1 leží 24 genů a v pseudoautosomální oblasti 2 se nachází 5 genů (Nussbaum et al., 2004).

Mezi hlavní cíle kompenzace genetické dávky patří vyváženost exprese mezi samcem a samicí a zároveň vyváženost mezi gonosomy a autosomy (Skuse et al., 2018).

3.1. Klinefelterův syndrom

Klinefelterův syndrom (KS) byl poprvé popsán v roce 1942 Harrym Klinefeltrem. Je to postižení mužů, kteří mají nadbytečný jeden nebo více chromosomů X. V některých případech může dojít i k nadbytečnému počtu chromosomů Y. V 80-90 % případů se jedná o karyotyp 47,XXY, mezi zbylými 10-20 % procenty případů se vyskytují karyotypy 48,XXXYY, 48,XXYY, 49,XXXXYY nebo různé kombinace mosaicismu (nejčastější je 47,XXY/46,XY) (Tuttelmann et Gromoll, 2010). Tento syndrom se vyskytuje u narozených chlapců s četností 1:800 a u 10-20 % mužů, kteří mají problémy s neplodností, je příčinou sterility (Morris et al., 2008). Pacienti s KS mohou trpět velkou škálou různých příznaků, mezi které patří: malá varlata, sterilita v důsledku azoospermie, gynekomastie, hypogonadismus, viscerální typ obezity, únava, diabetes mellitus 2. typu a mnoho dalších. Velké množství spolu zdánlivě nesouvisejících symptomů je jedním z důvodů, proč je problém KS diagnostikovat (Bojesen et al., 2011). Pouze u 10 % mužů je KS diagnostikován do puberty a dalších 25 % je diagnostikováno v dospělosti, většinou v důsledku problému s fertilitou (Tuttelmann et Gromoll, 2010).

Další výzkumy se snažily zjistit, zda u mužů s KS pochází nadbytečný chromosom X od matky nebo od otce a zda i v tomto případě probíhá inaktivace chromosomu X. Pozorování probíhalo na skupině 20 mužů, z toho 17 mělo karyotyp 47,XXY, dva 48,XXYY a jeden byl případ mozaiky s karyotypem 46,XY/47,XXY. Výsledkem bylo zjištění, že v 59 % případů pocházely oba chromosomy X od matky, ve 41 % případů byl jeden chromosom X od matky a druhý od otce. Co se týče průběhu XCI, ukázalo se, že v 80 % případů byla XCI náhodná a nebyl upřednostňován ani X_m ani X_p . A u zbylých 20 % byl během XCI upřednostňován X_m (Iitsuka et al., 2001).

Na této studii je vidět, že u Klinefelterova syndromu neprobíhá inaktivace chromosomu X zcela náhodně. Přibližně ve 20 % případů je při inaktivaci upřednostňován chromosom pocházející od matky. To by mohl být důvod, proč se u postižených jedinců výrazně liší míra postižení, ať už mentálního nebo somatického (Iitsuka et al., 2001).

U KS je tedy přítomen víc než jeden chromosom X a nadbytečné chromosomy v časném vývoji podléhají XCI. Stejně jako u žen zde 15 % genů inaktivaci uniká. Z tohoto důvodu u mužů s KS dochází, ve srovnání se zdravými muži, k větší expresi některých genů, které se podílí na fenotypu tohoto onemocnění (Berletch et al., 2010). Podle Bojsena jsou odlišnosti ve fenotypu ovlivněny průběhem XCI, původem nadbytečného chromosomu X a polymorfismem CAG repetiční oblasti na androgenním receptoru (Bojesen et al., 2011).

Androgenní receptor (AR) je lokalizován na Xq11.2-12. N-terminální doména genu pro AR obsahuje CAG repetitivní oblast, která je velice různorodá. Délka této oblasti nepřímo koreluje s aktivitou receptoru (Bonomi et al., 2017). Normální délka (CAG) $_n$ polymorfního pruhu je 9-37 repetice (Tuttelmann et Gromoll, 2010). Zvýšení počtu repetice CAG v AR nad 37 CAG je příčina Kennedyho nemoci, při níž se mimo jiného objevuje hypogonadismus, který vede k zmenšování varlat. Existuje nepřímá úměra mezi počtem CAG repetice a fyziologickou funkcí AR (Bojesen et al., 2011).

U pacientů s KS je jedna ze dvou alel androgenního receptoru inaktivována. Dle Suzukiho studie se přednostně inaktivuje delší alela, zatímco podle Zitzmanna kratší. Navíc bylo zjištěno, že pacienti ze Zitzmannovy studie, u kterých se preferenčně inaktivovala kratší alela a měli delší CAG repetitivní oblast, měli sklon k závažnějšímu postižení (Zitzmann et al., 2004).

Nedávná studie však potvrdila vztah mezi CAG repetitivní oblastí a fenotypovou variabilitou u pacientů s KS nezávislou na preferenci inaktivace dlouhé nebo krátké alely AR (Bonomi et al., 2017).

Nedávné studie ukazují, že metylace *XIST* u pacientů s KS je srovnatelná s tou, která je pozorovaná u žen (Bonomi et al., 2017). Tato data společně s tím, že je Barrovo tělísko přítomno i v jádrech Leydigových a Sertoliho buněk, zřejmě vypovídají o tom, že se v somatických buňkách pacientů s KS nadbytečný chromosom X inaktivuje stejně jako u žen (Frøland et Skakkebaek, 1971). Nadbytek genové dávky u mužů s KS tedy souvisí pouze s tím, že 15 % genů na inaktivovaném chromosomu X uniká inaktivaci. Jak již bylo zmíněno dříve, většina těchto genů leží na krátkém raménku chromosomu X (Carrel et Willard, 2005). Vzhledem k tomu, že jsou v případě KS geny exprimovány ve dvojnásobné dávce, podmiňují fenotyp KS. Dřívější studie ukazovaly, že zárodečné buňky jsou jediné, které ve varlatech exprimují *XIST*, a to vedlo k závěru, že jeden chromosom X v mužských pohlavních buňkách je ve varlatech dospělce inaktivován. Nicméně pozdější studie ukázaly, že XCI v dospělých spermatogoniích zcela nenastává, dokud je v pohlavních buňkách exprimováno velké množství X chromosomálních genů (Bonomi et al., 2017).

Kompletní sekvence lidského chromosomu X ukázala, že kolem 10 % X-vázaných genů je specifických pro varlata a patří do rodiny antigenů způsobujících rakovinu varlat (Ross et al., 2005). Takže i v zárodečných buňkách pacientů s KS může mít změna genové dávky těchto X-vázaných genů vliv na funkci varlat nebo účinek meiózy a mít význam v etiologii sterility u mužů s KS (Bonomi et al., 2017). Nedávné studie zjistily, že příliš velká exprese genu *TEX11* (Testis-expressed 11) v zárodečných buňkách u pacientů s KS může částečně přispívat k jejich smrti. To by znamenalo, že v případě KS by byl gen *TEX11* zodpovědný za selhání spermatogeneze (Yu et al., 2012).

3.2. Trisomie XXX

Jedinci s touto aneuploidií mají karyotyp 47,XXX. Trisomie chromosomu X vzniká v důsledku nondisjunkce. Studie zabývající se původem nadbytečného chromosomu X ukazují, že u karyotypu 47,XXX pochází nadbytečný chromosom v 74-80 % případů od matky a ke špatnému dělení dochází v 58-63 % v průběhu prvního meiotického dělení a v 16-17 % případů v průběhu druhého meiotického dělení. Stejně jako u jiných trisomií existuje souvislost mezi jejich vznikem a věkem matky (Tartaglia et al., 2010).

Fenotyp jedince s trisomií chromosomu X závisí na tom, od jakého rodiče je nadbytečný chromosom. Pokud pochází od otce, má plod tendenci ke špatnému vývoji a placenta je abnormální. Pokud pochází od matky, je placenta normální. Zargoza a spol. určili, že u většiny trisomií pochází dva chromosomy od matky a jeden od otce (Zaragoza et al., 2000).

Existuje hypotéza, která předpokládá, že fenotypové abnormality související s trisomií chromosomu X vznikají v důsledku nadbytečné exprese genů unikajících XCI. Zatím jsou zde jen některé důkazy o tom, že nadměrná genetická dávka těchto genů se může podílet na celkovém fenotypu. Jedním z takových genů je *SHOX*, který také uniká XCI a je spojován s malou postavou u Turnerova syndromu a s nadměrně velkou postavou u aneuploidií s několikanásobným počtem chromosomu X (Tartaglia et al., 2010).

Dále se ukázalo, že existuje souvislost mezi trisomickým těhotenstvím a pravděpodobností vzniku dalšího trisomického plodu. Žena, která za sebou má jedno trisomické těhotenství, má vyšší pravděpodobnost vzniku dalšího trisomického plodu. (Beever et al., 2003). Zvýšená pravděpodobnost by mohla souviset se vznikem aneuploidií a zkreslením XCI. U mnoha žen lze najít odchylku v poměru buněk s inaktivací chromosomu X od otce a od matky. Jako zkreslení XCI je označena odchylka od náhodné XCI (Bretherick et al., 2005). K tomu může dojít v důsledku několika možných mechanismů. Prvním z nich je vliv mutace *XIST* na to, který chromosom X bude inaktivován (Plenge et al., 1997). Druhým jsou selektivní rozdíly mezi buňkami inaktivujícími jeden nebo druhý chromosom X v důsledku mutací nebo chromosomových přestaveb na chromosomu X (Bretherick et al., 2005).

Při výzkumu souvislostí mezi zkreslenou XCI a samovolnými potraty, nebyly nalezeny žádné klinické rozdíly. Vyšší procento trisomií v porovnání s potraty s normální sestavou chromosomů bylo nalezeno pouze ve vzorku jedinců ze studie Beevera a spol. z roku 2003 (Bretherick et al., 2005).

Migeon a spol. se ve své studii zabývali tím, zda dochází u trisomií k inaktivaci chromosomu X a jak je vybírán chromosom, který má být inaktivován. Jako markery pro inaktivaci chromosomu X si vybrali *XIST* a *TSIX* RNA. Jak už bylo zmíněno výše, u lidí je *TSIX* RNA markerem pro inaktivovaný chromosom X, protože je spolu s *XIST* exprimována z inaktivovaného chromosomu X. Metoda FISH prokázala, že 87 % pacientů s trisomií má alespoň v některých buňkách aktivní dva chromosomy X, což může být důsledkem nestability XCI (Migeon et al., 2008).

Gartler a spol. se domnívá, že dva aktivní chromosomy X jsou výsledkem reaktivace již inaktivovaného chromosomu, nebo reduplikace aktivního chromosomu X (Gartler et al., 2006). Nicméně v předchozích studiích nebyla nikdy pozorována spontánní reaktivace celého chromosomu a duplikace byla vyloučena v případech, kdy mohou být dva chromosomy X rozlišeny polymorfní variantou (Migeon et al., 2008). Kromě toho dřívější studie ukázaly, že dva aktivní chromosomy X se svými fenotypy ve fibroblastech kůže jsou vysoce stabilní (Migeon et al., 1979). Bylo zjištěno, že k tomu, aby byl aktivní jeden chromosom X jsou potřeba dvě kopie trans-aktivního faktoru. Z toho vyplývá, že tři kopie trans-aktivního faktoru nemusí stačit k tomu, aby v každé buňce zůstaly aktivní dva chromosomy X. Stochastické variace v četnosti trans-faktorů mohou být důvodem, proč je v některých buňkách aktivní jeden chromosom X a v jiných dva (Gartler et al., 2006).

Rozdíly v počtu aktivních chromosomů X mohou být také podmíněny tím, jak moc buňka proliferuje. Na základě toho Jacobs a spol. navrhli, že počet aktivních chromosomů X může souviset s tím, z jaké tkáně buňky pochází (Jacobs, 1979). V každém případě nezávisle na tom, od jakého rodiče pochází nadbytečný chromosom, zůstávají ve většině buněk aktivní dva chromosomy X. Studie zabývající se trisomiemi nám říkají, že faktor umožňující aktivitu více než jednoho chromosomu X není přítomen v dostatečném množství, aby umožnil aktivitu dvou chromosomů X v každé buňce. U většiny trisomií chromosomu X má ale převážná část buněk aktivní dva chromosomy X. Nadbytečný set chromosomů tedy musí mít nějaký mechanismus, kterým umožní aktivitu více chromosomů X (Migeon et al., 2008).

3.3. Triploidie

Triploidie jsou chromosomové abnormality při kterých má jedinec navíc haploidní sadu chromosomů (69,XXX, 69,XXY, 69,XYY). Tato sada může pocházet od matky i od otce. Výskyt triploidii je 1-2 % ze všech počtů. Většina těchto plodů je v průběhu vývoje spontánně potracena (Massalska et al., 2017).

Migeon a spol. se rozhodli využít triploidii k nalezení faktorů, které by byly schopné zajistit podmínky pro to, aby mohly být v buňce aktivní dva chromosomy X. A začali hledat geny, které by mohly fungovat jako represor *XIST* (Migeon et al., 2008). Vycházeli z toho, že zde jsou dvě hypotézy, první je inaktivace chromosomu X a druhá je hypotéza jednoho aktivního chromosomu X. Rozdíl spočívá v tom, zda během fáze počítání, kdy se rozhoduje o tom, kolik chromosomů bude inaktivováno, jsou vybrány chromosomy, které se mají inaktivovat, nebo je vybrán jeden chromosom X, který má zůstat aktivní. Obě možnosti jsou

přijatelné, na základě studií inaktivace chromosomu X u zdravých žen a u lidí s aneuploidii se vědci přiklání spíše k hypotéze jednoho aktivního chromosomu X, alespoň co se týká lidského druhu (Migeon, 2011). Gen *XIST* má všechny známky housekeeping genu. Mezi vlastnosti těchto genů patří nepřítomnost TATA boxů, ubiquitinová aktivita a 5'CpG konec. Ten je u lidských zygot obou pohlaví exprimován všemi chromosomy X až do chvíle, kdy je v průběhu embryogeneze vypnut lokus budoucího aktivního chromosomu X. V tu chvíli CpG konec začne podléhat metylaci (Okamoto et Heard, 2009).

Studie, které se věnovaly triploidii 69,XXX a 69,XXY získaly důkazy, že u triploidii je vybírán ten chromosom X, který později zůstává aktivní. Dále se ukázalo, že 87 % z 47 studovaných triploidii má v buňkách aktivní dva chromosomy X (Deng et al., 2009). To vede k domněnce, že nadbytečný set autosomů dovoluje buňkám zachovat aktivitu více než jednoho chromosomu X. Možným vysvětlením by mohlo být to, že jsou aktivní chromosomy X vybírány represorem jejich *XIST* genu. Represor je kódován autosomy, a tím pádem extra set autosomů umožňuje ponechat více chromosomů X aktivních (Migeon et al., 2017).

V následující tabulce je vidět relativní četnost triploidii 69,XXX; 69,XXY a 69,XYY ve vzorku 820 lidí, kteří byli zkoumaní v rámci studie z roku 2008, a zastoupení jednotlivých karyotypů v jednotlivých oblastech výzkumu.

Vzorek	Trunca, NY	Jacobs, Hawai	Jacobs, Wessex	Stetten, MD	Ostatní studie	Dohromady (%)
69,XXX	50	75	70	23	138	356 (43,4 %)
69,XXY	81	107	51	30	176	445 (54,3 %)
69,XYY	6	5	1	1	6	19 (2,3 %)
Dohromady	137	187	122	54	320	820

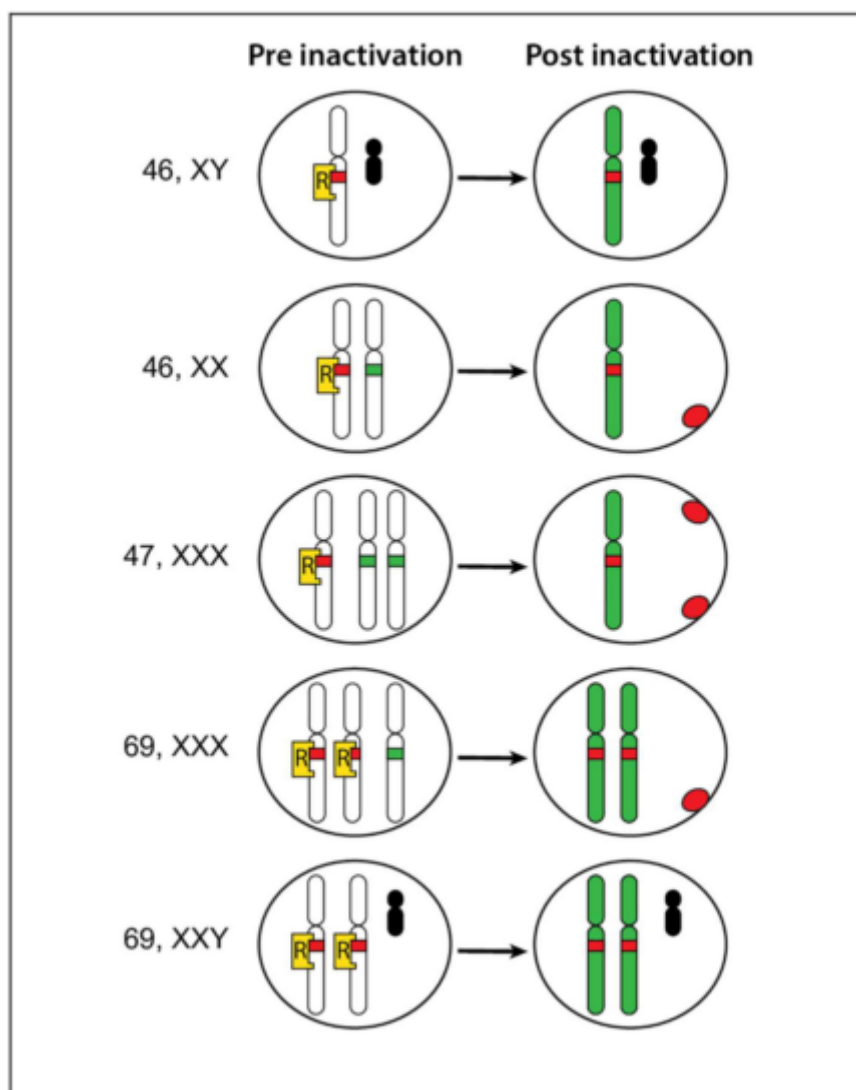
Tabulka 1 Relativní četnost triploidii 69,XXX; 69,XXY; 69,XYY ve vzorku 820 lidí. Přeloženo podle (Migeon et al., 2008)

V následující tabulce je vidět kolik chromosomů X zůstává u triploidií aktivních. Z celkového počtu jedinců s karyotypem 69,XXX; 69,XXY nebo 69,XYY zůstává aktivní jeden nebo dva chromosomy X. V některých případech se množství aktivních a inaktivovaných chromosomů X liší v rámci různých buněk jednoho jedince.

Karyotyp	Počet	Jeden	Dva	Smíšené
69,XXY	29	5	15	9
69,XXX	12	1	6	5
69,XXX	6	0	3	3
Dohromady	47	6	24	17

Tabulka 2 Počet aktivních chromosomů X u triploidií. Přeloženo podle (Migeon et al., 2008).

Za předpokladu, že by nadbytečný set autosomů tvořil větší množství trans-aktivního faktoru, a tím umožňoval aktivitu více než jednoho chromosomu X, by musel být zároveň represorem *XIST*. Protože chromosom X, který exprimuje *XIST* nemůže zůstat aktivní. Na aktivním chromosomu X je nutné, aby došlo k represi *XIST*. Předpokládá se, že v diploidní buňce je pouze tolik represoru *XIST*, kolik stačí na to, aby udržel aktivní jeden chromosom X, ale u triploidních buněk je ho tam více, a tak můžou zůstat aktivní dva chromosomy X. Na základě pozorování byla vytvořena hypotéza, že jeden aktivní chromosom X je vybrán represorem *XIST*. Zřejmě je zde autosomální gen nebo element, který funguje jako represor *XIST*, nebo spouští proces umlčení *XIST* na budoucím aktivním chromosomu X. Tento represor *XIST* je genový produkt závislý na množství. Dvě genové dávky mohou potlačit aktivitu jen jednoho genu *XIST*. Také trans-faktor se může spojit přímo s cis elementy uvnitř lokusu *XIST* a nepřímo se podílet na represi *XIST* prostřednictvím vazby s ostatními elementy v X inaktivačním centru (Migeon et al., 2008).



Obr. 5: Model represoru genu *XIST* pro hypotézu, která předpokládá, že se během fáze počítání vybírá jeden chromosom X, který zůstane aktivní. Podle toho na kolik chromosomů X se represor naváže, tolik chromosomů X zůstane aktivních. Ve sloupečku před inaktivací je bílou barvou zobrazen chromosom X a černou barvou chromosom Y. Po inaktivaci jsou zeleně značené chromosomy X aktivní a červené tečky představují počet inaktivních chromosomů X ve formě Barrova tělíčka.

Převzato z Migeon 2017

Nálezy u triploidních buněk měly důsledek pro diploidní buňky. Zjistilo se, že nejrychlejší cesta pro zachování aktivity chromosomu X v jakékoliv buňce je vypnout její lokus *XIST*, to platí jak u ženy, tak i u muže. Migeon a spol. předpokládali, že pokud by byly v diploidní buňce tři kopie represoru genu *XIST*, tak by v buňce zůstaly aktivní oba chromosomy X s tím, že by to bylo pro plod velmi brzy letální. Nebyl pozorován žádný živý jedinec (XX), který by měl po narození aktivní oba chromosomy X (Migeon et al., 2017).

Migeon a spol. si dali za úkol nalézt chromosom, který nese domnělý represor genu *XIST*. Chromosom hledali zkoumáním diploidních jedinců, kteří měli trisomii některého z autosomů. Výsledkem bylo, že vyloučili 20 z 22 autosomů. Zbývalo prozkoumat dva autosomy 1 a 19, které se ovšem v žádném z potracených plodů nevyskytovaly ve třech kopiích. Zřejmě proto, že trisomie těchto autosomů nedovoluje embryu přežít dost dlouho na to, aby bylo možné je identifikovat jako samovolný potrat. Doufali, že jim studie těchto jedinců pomůže eliminovat oblasti chromosomu, které se normálně účastní XCI, od oblastí, které se u živě narozených jedinců nezapojují a které by mohly kódovat na dávku citlivý represor *XIST* (Migeon et al., 2017).

Od roku 2008, kdy byla poprvé zveřejněna studie, ve které se začaly zkoumat autosomy a hledat lokusy, které by se mohly podílet na represi genu *XIST*, bylo nasbíráno mnoho dat obsahujících vzorky lidských částečných trisomií na autozomech (Migeon et al., 2008). Revize tohoto projektu umožnila najít autosom, který Migeon a spol. dlouho hledali, a identifikovat geny, které by mohly být zodpovědné za represi genu *XIST*. Také to odhalilo dříve neznámou pohlavní odchylku v počtu kopií jedinečných variant jednoho autosomu. Tyto pohlavní odchylky naznačují podstatnou neimplantační ztrátu žen (Migeon et al., 2017).

Hledání v knihovně OMIM ukázalo, že mnoho genů na chromosomech 1 a 19 má určitou transkripční aktivitu nebo se podílí na represi (Migeon et al., 2017). Už dříve bylo známo, že tři klíčové proteiny (lamin B receptor, SPEN, HNRNPU), důležité pro umlčení *XIST* jsou umístěny na chromosomu 1. Dále na chromosomu 1 leží *XIST* aktivátor *KDM4A* a potencionální represor *XIST* *KDM1A* a *KDM5B*, které odstraňují aktivátor transkripce *H3K4* (Fukuda et al., 2014).

Na chromosomu 19 také leží aktivátor *XIST* *KDM4B*, aktivátor transkripce *KMT2B*, několik potencionálních represorů *XIST*, deacetylasy histonů, faktory SAFB&B2 včetně genu udržujícího DNA methyltransferázu a protein, který uváže DNMT1 na chromatin a udělá represi retrotransposonů (Fukuda et al., 2014).

Chromosom 1 tudíž zřejmě hraje roli v umlčení chromosomu X a chromosom 19 má za úkol ochránit aktivní X (Migeon et al., 2017).

Bylo vybráno několik možných kandidátů na represor *XIST*. Prvním z nich je DNA methyltransferáza (*DNMT1*), která je umístěna uprostřed 19p13.2 zinc finger klastru a zapojuje se do inaktivace *XIST*. Má funkci de novo metylace imprintovaných genů včetně *XIST*. Dalším kandidátem je histon a DNA-vázající RING E3 ubiquitin ligáza, což je esenciální kofaktor pro

DNMT1. Posledními kandidáty jsou *FAFB* a *SAFB2*, které pomáhají ve zprostředkování metylace *XIST* (Migeon et al., 2017).

Všechny tyto faktory jsou aktivní v raném vývoji embrya, ještě před gastrulací a před inaktivací chromosomu X. Přímé testování možných genů je znevýhodněno zákazem studií na lidských embryích a faktem, že lidské embryonální kmenové buňky velmi časně podléhají inaktivaci chromosomu X. Model autozomálního represoru *XIST* je založený na jednom genu citlivém na genetickou dávku. Je těžké říct, jak tento na dávku citlivý represor funguje, protože v normální diploidní buňce se vyskytuje ve dvou kopiích, ale umlčuje pouze jeden lokus *XIST*. Je nepravděpodobné, že produkt genů z obou chromosomů 19 je potřebný pro delecii jednoho lokusu, takže správná genetická dávka možná vyžaduje nějakou formu kompetitivní inhibice. Případně může být potřeba fyzický kontakt s jedním chromosomem 19 k zajištění toho, že bude reprimován pouze jeden gen *XIST* (Migeon et al., 2017).

Analýza počtu kopií různých variant autosomů ukázala oblast dlouhou 8 MB, která leží na krátkém raménku chromosomu 19 a je intolerantní k duplikaci. Mnoho genů ležících v této oblasti mění předpokládaný poměr vzniku pohlaví z 50:50 na poměr znevýhodňující vznik ženského pohlaví. Migeon a spol. se domnívá, že výsledkem posunu je selektivní ztráta embryí. Ženská embrya jsou v případě duplikace příslušných genů na chromosomu 19 přednostně potracena. Zatím není jasné, z jakého důvodu se liší poměry mezi vznikem mužů a žen. Nebylo zjištěno, že by během gametogeneze nebo fertilizace docházelo k zvýhodňování spermií nesoucí chromosom Y. Zároveň se ví, že ve všech stádiích těhotenství dochází častěji k potracení mužských plodů než ženských (Migeon et al., 2017).

XCI je proces velmi citlivý na genetickou dávku a pro ženy je to velmi nebezpečná fáze vývoje, kdy může dojít k zachování aktivity více než jednoho chromosomu X, což může být letální a většina takových embryí nemá šanci na přežití. To může být jedním z důvodů, proč se rodí o něco více mužů než žen, přesná čísla závisí na konkrétních státech (Migeon et al., 2017).

3.4. Pentasomie chromosomu X

První případ pentasomie chromosomu X byl popsán v roce 1963. Do dnešní doby je známo pouze 26 lidí, kteří se s touto odchylkou narodili a dalších 5 případů bylo zaznamenáno v prenatalním stádiu. Pouze jedna dívka se dožila věku 15 let (Moraes et al., 2009). Má se za to, že tato odchylka souvisí s nondisjunkcí chromosomu X v obou po sobě jdoucích meiotických děleních (Markholt, 2017). Tito jedinci trpí mentální retardací, mají opožděný

vývoj řeči, malou postavu, kloubní a kosterní abnormality a vrozené srdeční vady (Moraes et al., 2009).

Podle hypotézy, kterou vyslovila Lyonová, by mělo během XCI u aneuploidie dojít k tomu, že budou všechny chromosomy X až na jeden inaktivovány. U jedinců s karyotypem 49,XXXXX se ale ukazuje, že během pozdní replikace chromosomu X je XCI méně účinná a v některých buňkách nechává aktivní víc než jeden chromosom X. Mimo to analýza acetylace histonu H4 u lidí s karyotypem 49,XXXXX, 49,XXXXY, 48,XXXY a 47,XXX ukázala změnu deacetylace histonu H4 ve chvíli, kdy byl vytvořen inaktivovaný stav. Tyto změny mohou mít rozhodující vliv na to, kolik a které chromosomy X budou neacetylovány a možná díky tomu podstoupí inaktivaci víc než jeden chromosom X. Tyto výsledky ukazují, že nadměrný počet chromosomů X může mít souvislost s abnormálním fenotypem díky většímu množství aktivních oblastí, nebo zvýšené asynchronitě replikace chromosomu X (Skuse et al., 2018).

Analýza pulsní kultury 5-bromodeoxyuridinu (BrdU) naznačila, že funkční stav čtyř allocyklických chromosomů X zřejmě vyplývá z rozvratu kinetiky pozdní replikace DNA a vykazuje vysoký počet aktivních úseků na chromosomu X u jedinců s karyotypem 49,XXXXX v porovnání s inaktivací jednoho chromosomu X u zdravé ženy 46,XX. Molekulární analýza čtyř chromosomů X, které u 15 leté dívky pocházely od matky, ukázala, že tyto chromosomy původně vznikly dvěma po sobě jdoucími nondisjunkcemi během oogeneze. To odpovídá předchozímu zjištění, že původ polysomie chromosomu X je v tomto případě maternální. Při porovnání X inaktivačních vzorců u probandky se ukázalo, že chromosom X pocházející od otce byl vždy aktivní a chromosom X pocházející od matky byl přednostně inaktivován (Moraes et al., 2009).

4. Závěr

Ze studií zabývajících se inaktivací chromosomu X u lidí s abnormální sestavou gonosomů vyplývá, že u všech aneuploidii, kde se nachází alespoň dva chromosomy X dochází k inaktivaci. XCI v těchto případech však není jednotná a v porovnání se zdravými ženami zde dochází k odchylkám.

XCI u aneuploidii s karyotypem 47,XXY, 48,XXXY, 48,XXYY, 49,XXXXY není jednotná a dokonce ani náhodná. Ve 20 % případů jsou při inaktivaci upřednostňovány chromosomy pocházející od matky. Zároveň se ukázalo, že metylace *XIST* u jedinců s KS je srovnatelná s tou, která probíhá u žen. Na výsledném fenotypu KS se podílí nadbytek genové dávky z genů unikajících inaktivaci a polymorfismus CAG repetiční oblasti ležící v oblasti androgenního receptoru. Tento vztah byl potvrzen nedávnou studií, bez prokázání preference inaktivace krátké či dlouhé alely.

U trisomií chromosomu X, bylo zjištěno, že v některých buňkách zůstávají aktivní dva chromosomy X. To znamená, že musí existovat geny, které fungují jako represor *XIST* a umožňují aktivitu více než jednoho chromosomu X. Migeon a spol. se zabývali studiem triploidii a díky tomu určili, že geny, které se na tom podílí leží na autosomech 1 a 19. Geny z chromosomu 1 se uplatňují při umlčení chromosomu X a geny z chromosomu 19 chrání aktivní chromosom X. Konkrétními kandidáty na represor genu *XIST* by mohla být DNA methyltransferáza, DNA- vázající RING E3 ubiquitin ligáza, *FAFB* a *SAFB2*.

U pentasomie chromosomu X bylo zjištěno, že v buňce zůstává aktivní víc než jeden chromosom X. Za tuto skutečnost je zřejmě zodpovědná deacetylase histonu H4 na inaktivovaném chromosomu X, která snižuje účinnost XCI.

Problémem dalších studií je zákaz používání lidských embryí jako experimentálního materiálu. XCI probíhá v časných fázích a potracení embrya v této době nemusí být vůbec zaznamenáno. Z tohoto důvodu se často využívají zvířecí modely. V některých případech to ale není vhodné, protože se mechanismy zvířecího modelu a člověka mohou výrazně lišit.

5. Použitá literatura

BARAKAT, T. S., N. GUNHANLAR, C. GONTAN PARDO, et al. RNF12 Activates Xist and Is Essential for X Chromosome Inactivation. *PLoS Genetics* [online]. 2011, 7(1) [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002001. ISSN 1553-7404. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1002001>

BEEVER, C.L., M.D. STEPHENSON, M.S. PEÑAHERRERA, et al. Skewed X-Chromosome Inactivation Is Associated with Trisomy in Women Ascertained on the Basis of Recurrent Spontaneous Abortion or Chromosomally Abnormal Pregnancies. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 2003, 72(2), 399-407 [cit. 2018-11-18]. DOI: 10.1086/346119. ISSN 00029297. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929707605485>

BERLETCH, J. B, F. YANG a Ch. M. DISTECHE. Escape from X inactivation in mice and humans. *Genome Biology* [online]. 2010, 11(6) [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1186/gb-2010-11-6-213. ISSN 1465-6906. Dostupné z: <http://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2010-11-6-213>

BOJESSEN, A., J. M. HERTZ a C. H. GRAVHOLT. Genotype and phenotype in Klinefelter syndrome - impact of androgen receptor polymorphism and skewed X inactivation. *International Journal of Andrology* [online]. 2011, 34(6pt2), e642-e648 [cit. 2018-10-24]. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2011.01223.x. ISSN 01056263. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2605.2011.01223.x>

BONOMI, M., V. ROCHIRA, D. PASQUALI, G. BALETRCIA, E. A. JANNINI a A. FERLIN. Klinefelter syndrome (KS): genetics, clinical phenotype and hypogonadism. *Journal of Endocrinological Investigation* [online]. 2017, 40(2), 123-134 [cit. 2018-10-24]. DOI: 10.1007/s40618-016-0541-6. ISSN 1720-8386. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s40618-016-0541-6>

BREThERICK, K., J. GAIR a W.P. ROBINSON. The association of skewed X chromosome inactivation with aneuploidy in humans. *Cytogenetic and Genome Research* [online]. 2005, 111(3-4), 260-265 [cit. 2018-11-18]. DOI: 10.1159/000086898. ISSN 1424-8581. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/86898>

BROWN, C. J., A. BALLABIO, J. L. RUPERT, R. G. LAFRENIERE, M. GROMPE, R. TONLORENZI a H. F. WILLARD. A gene from the region of the human X inactivation centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome. *Nature*[online]. 1991, **349**(6304), 38-44 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1038/349038a0. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/349038a0>

BROWN, C. J., R. G. LAFRENIERE, V. E. POWERS, et al. Localization of the X inactivation centre on the human X chromosome in Xq13. *Nature* [online]. 1991, **349**(6304), 82-84 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1038/349082a0. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/349082a0>

CARREL, L. a H. F. WILLARD. Heterogeneous gene expression from the inactive X chromosome: An X-linked gene that escapes X inactivation in some human cell lines but is inactivated in others. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1999, **96**(13), 7364-7369 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1073/pnas.96.13.7364. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.96.13.7364>

CARREL, L. a H. F. WILLARD. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature*[online]. 2005, **434**(7031), 400-404 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1038/nature03479. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nature03479>

DENG, X., Di K. NGUYEN, R. S. HANSEN, D. L. VAN DYKE, S. M. GARTLER, Ch. M. DISTECHE aj. T. LEE. Dosage Regulation of the Active X Chromosome in Human Triploid Cells. *PLoS Genetics* [online]. 2009, **5**(12) [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000751. ISSN 1553-7404. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1000751>

DISTECHE, Ch. M. Dosage Compensation of the Sex Chromosomes. *Annual Review of Genetics* [online]. 2012, **46**(1), 537-560 [cit. 2019-07-10]. DOI: 10.1146/annurev-genet-110711-155454. ISSN 0066-4197. Dostupné z: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-genet-110711-155454>

FRØLAND, A. a N. E. SKAKKEBAEK. Dimorphism in Sex Chromatin Pattern of Sertoli Cells in Adults with Klinefelter's Syndrome: Correlation with Two Types of "Sertoli-Cell-Only" Tubules. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 1971, **33**(4), 683-687 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1210/jcem-33-4-683. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-33-4-683>

FUKUDA, A., J. TOMIKAWA, T. MIURA, K. HATA, K. NAKABAYASHI, K. EGGAN, H. AKUTSU a A. UMEZAWA. The role of maternal-specific H3K9me3 modification in establishing imprinted X-chromosome inactivation and embryogenesis in mice. *Nature Communications* [online]. 2014, **5**(1) [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1038/ncomms6464. ISSN 2041-1723. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/ncomms6464>

GARTLER, S. M, K. R VARADARAJAN, P. LUO, T. H NORWOOD, T. K CANFIELD a R S. HANSEN. Abnormal X: autosome ratio, but normal X chromosome inactivation in human triploid cultures. *BMC Genetics* [online]. 2006, **7**(1) [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1186/1471-2156-7-41. ISSN 1471-2156. Dostupné z: <https://bmegenet.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2156-7-41>

HEARD, E. Dosage compensation in mammals: fine-tuning the expression of the X chromosome. *Genes & Development* [online]. 2006, **20**(14), 1848-1867 [cit. 2019-08-11]. DOI: 10.1101/gad.1422906. ISSN 0890-9369. Dostupné z: <http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.1422906>

HEARD, E., F. MONGELARD, D. ARNAUD a P. AVNER. Xist Yeast Artificial Chromosome Transgenes Function as X-Inactivation Centers Only in Multicopy Arrays and Not as Single Copies. *Molecular and Cellular Biology* [online]. 1999, **19**(4), 3156-3166 [cit. 2019-07-09]. DOI: 10.1128/MCB.19.4.3156. ISSN 0270-7306. Dostupné z: <http://mcb.asm.org/lookup/doi/10.1128/MCB.19.4.3156>

CHAUMEIL, J. A novel role for Xist RNA in the formation of a repressive nuclear compartment into which genes are recruited when silenced. *Genes & Development* [online]. 2006, **20**(16), 2223-2237 [cit. 2019-07-10]. DOI: 10.1101/gad.380906. ISSN 0890-9369. Dostupné z: <http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.380906>

CHUREAU, C., S. CHANTALAT, A. ROMITO, A. GALVANI, L. DURET, P. AVNER a C. ROUGEULLE. Ftx is a non-coding RNA which affects Xist expression and chromatin structure within the X-inactivation center region. *Human Molecular Genetics* [online]. 2011, **20**(4), 705-718 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1093/hmg/ddq516. ISSN 1460-2083. Dostupné z: <https://academic.oup.com/hmg/article-lookup/doi/10.1093/hmg/ddq516>

IITSUKA, Y., BOCK, A., NGUYEN, D. D., Samango-Sprouse, C., SIMPSON, J. L., & BISCHOFF, F. Z. (2001). Evidence of skewed X-chromosome inactivation in 47,XXY and 48,XXYY klinefelter patients. *American Journal of Medical Genetics*, 98, 25–31.

JACOBS, P. A. *et al.* Late replicating X chromosomes in human triploidy. *American Journal Of Human Genetics* [online]. 1979, 31(4), pp. 446-457 [cit. 2019-07-09]. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com.ezproxy.is.cuni.cz/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=484553&lang=cs&site=ehost-live>

JONKERS, I., T. S. BARAKAT, E. M. ACHAME, et al. RNF12 Is an X-Encoded Dose-Dependent Activator of X Chromosome Inactivation. *Cell* [online]. 2009, **139**(5), 999-1011 [cit. 2019-07-09]. DOI: 10.1016/j.cell.2009.10.034. ISSN 00928674. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867409013609>

KAŠÍKOVÁ, L.. Turnerův syndrom a jeho souvislost s inaktivací chromozómu X. [online]. Praha, 2017. [cit. 2019-01-25] Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra genetiky a mikrobiologie. Vedoucí práce RNDr. Michaela Schierová, Ph.D. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/20.500.11956/56097>

LEE, J., L. S DAVIDOW a D. WARSHAWSKY. Tsix, a gene antisense to Xist at the X-inactivation centre. *Nature Genetics* [online]. 1999, **21**(4), 400-404 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1038/7734. ISSN 1061-4036. Dostupné z: http://www.nature.com/articles/ng0499_400

LYON, M. F. Gene Action in the X-chromosome of the Mouse (*Mus musculus* L.). *Nature* [online]. 1961, **190**(4773), 372-373 [cit. 2019-08-13]. DOI: 10.1038/190372a0. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/190372a0>

LYON, M. F. How X-chromosome inactivation was discovered. *Biologist*. 2007, (54), 94-97. ISSN 0006-3347. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com.ezproxy.is.cuni.cz/login.aspx?direct=true&db=asn&AN=25892574&lang=cs&site=ehost-live>.

LYON, M. F. Some Milestones in the History of X-Chromosome Inactivation. *Annual Review of Genetics* [online]. 1992, **26**(1), 17-29 [cit. 2019-08-13]. DOI: 10.1146/annurev.ge.26.120192.000313. ISSN 0066-4197. Dostupné z: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.ge.26.120192.000313>

MARAHRENS, Y, B PANNING, J DAUSMAN, W STRAUSS a R JAENISCH. Xist-deficient mice are defective in dosage compensation but not spermatogenesis. *Genes & Development* [online]. 1997, **11**(2), 156-166 [cit. 2019-07-09]. DOI: 10.1101/gad.11.2.156. ISSN 0890-9369. Dostupné z: <http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.11.2.156>

MARKHOLT, S., J. GRAAKJAER, S. B. THIM, B. HØST a A.SKYTTE. A case of penta X syndrome caused by nondisjunction in maternal meiosis 1 and 2. *Clinical Case Reports*[online]. 2017, **5**(7), 1136-1140 [cit. 2018-10-09]. DOI: 10.1002/ccr3.1004. ISSN 20500904. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ccr3.1004>

MASSALSKA, D., J. BIJOK, A. ILNICKA, G. JAKIEL a T. ROSZKOWSKI. Triploidy - variability of sonographic phenotypes. *Prenatal Diagnosis* [online]. 2017, **37**(8), 774-780 [cit. 2019-07-16]. DOI: 10.1002/pd.5080. ISSN 01973851. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pd.5080>

MIGEON, B. R, K. PAPPAS, G. STETTEN, C. TRUNCA a P. A JACOBS. X inactivation in triploidy and trisomy: the search for autosomal transactors that choose the active X. *European Journal of Human Genetics* [online]. 2008, **16**(2), 153-162 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201944. ISSN 1018-4813. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/5201944>

MIGEON, B. R., A. K. CHOWDHURY, J. A. DUNSTON a I. MCINTOSH. Identification of TSIX, Encoding an RNA Antisense to Human XIST, Reveals Differences from its Murine Counterpart: Implications for X Inactivation. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 2001, **69**(5), 951-960 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1086/324022. ISSN 00029297. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929707613111>

MIGEON, B. R., C. H. LEE, A. K. CHOWDHURY a H. CARPENTER. Species Differences in TSIX/Tsix Reveal the Roles of These Genes in X-Chromosome Inactivation. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 2002, **71**(2), 286-293 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1086/341605. ISSN 00029297. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929707604741>

MIGEON, B. R., J. A. SPRENKLE a T. T. DO. Stability of the “two active X” phenotype in triploid somatic cells. *Cell* [online]. 1979, **18**(3), 637-641 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1016/0092-8674(79)90118-1. ISSN 00928674. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0092867479901181>

MIGEON, B. R., M. A. BEER, H.T. BJORNSSON a A. WUTZ. Embryonic loss of human females with partial trisomy 19 identifies region critical for the single active X. *PLOS ONE* [online]. 2017, **12**(4) [cit. 2018-12-05]. DOI: 10.1371/journal.pone.0170403. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0170403>

MIGEON, B. R. The single active X in human cells: evolutionary tinkering personified. *Human Genetics* [online]. 2011, **130**(2), 281-293 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1007/s00439-011-1016-7. ISSN 0340-6717. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00439-011-1016-7>

MONKHORST, K., I. JONKERS, E. RENTMEESTER, F. GROSVELD a J. GRIBNAU. X Inactivation Counting and Choice Is a Stochastic Process: Evidence for Involvement of an X-Linked Activator. *Cell* [online]. 2008, **132**(3), 410-421 [cit. 2019-07-09]. DOI: 10.1016/j.cell.2007.12.036. ISSN 00928674. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867408000573>

MORAES, L. M, L. CA CARDOSO, V. LS MOURA, M. AM MOREIRA, A. N MENEZES, J. C LLERENA a H. N SEUÁNEZ. Detailed analysis of X chromosome inactivation in a 49,XXXXX pentasomy. *Molecular Cytogenetics* [online]. 2009, **2**(1) [cit. 2018-11-25]. DOI: 10.1186/1755-8166-2-20. ISSN 1755-8166. Dostupné z: <http://molecularcytogenetics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1755-8166-2-20>

MORRIS, J. K, E. ALBERMAN, C. SCOTT a P. JACOBS. Is the prevalence of Klinefelter syndrome increasing?. *European Journal of Human Genetics* [online]. 2008, **16**(2), 163-170 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201956. ISSN 1018-4813. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/5201956>

NUSSBAUM, R. L., R. R. MCINNES a H. F. WILLARD. *Klinická genetika*. 6. vyd. Praha: Triton, c2004. ISBN 80-7254-475-6.

OKAMOTO, I. a E. HEARD. Lessons from comparative analysis of X-chromosome inactivation in mammals. *Chromosome Research* [online]. 2009, **17**(5), 659-669 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1007/s10577-009-9057-7. ISSN 0967-3849. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10577-009-9057-7>

PLENGE, R. M., B. D. HENDRICH, Ch. SCHWARTZ, J. F. ARENA, A. NAUMOVA, C. SAPIENZA, R. M. WINTER a H. F. WILLARD. A promoter mutation in the XIST gene in two unrelated families with skewed X-chromosome inactivation. *Nature Genetics* [online]. 1997, **17**(3), 353-356 [cit. 2019-07-14]. DOI: 10.1038/ng1197-353. ISSN 1061-4036. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/ng1197-353>

ROSS, M. T., D. V. GRAFHAM, A. J. COFFEY, et al. The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature* [online]. 2005, **434**(7031), 325-337 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1038/nature03440. ISSN 0028-0836. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nature03440>

SKUSE, D., F. PRINTZLAU a J. WOLSTENCROFT. Sex chromosome aneuploidies. *Neurogenetics, Part I* [online]. Elsevier, 2018, 2018, s. 355-376 [cit. 2018-11-25]. Handbook of Clinical Neurology. DOI: 10.1016/B978-0-444-63233-3.00024-5. ISBN 9780444632333. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444632333000245>

TARTAGLIA, N. R., S. HOWELL, A. SUTHERLAND, R. WILSON a L. WILSON. A review of trisomy X (47,XXX). *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 2010, **5**(1) [cit. 2018-11-18]. DOI: 10.1186/1750-1172-5-8. ISSN 1750-1172. Dostupné z: <http://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-5-8>

TIAN, Di, S. SUN aj. T. LEE. The Long Noncoding RNA, Jpx, Is a Molecular Switch for X Chromosome Inactivation. *Cell* [online]. 2010, **143**(3), 390-403 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1016/j.cell.2010.09.049. ISSN 00928674. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867410011359>

TUTTELMANN, F. a J. GROMOLL. Novel genetic aspects of Klinefelter's syndrome. *Molecular Human Reproduction* [online]. 2010, **16**(6), 386-395 [cit. 2019-03-25]. DOI: 10.1093/molehr/gaq019. ISSN 1360-9947. Dostupné z: <https://academic.oup.com/molehr/article-lookup/doi/10.1093/molehr/gaq019>

WHITE, M. A., A. IKEDA a B. A. PAYSEUR. A pronounced evolutionary shift of the pseudoautosomal region boundary in house mice. *Mammalian Genome* [online]. 2012, **23**(7-8), 454-466 [cit. 2019-07-17]. DOI: 10.1007/s00335-012-9403-5. ISSN 0938-8990. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00335-012-9403-5>

WUTZ, A., T. P. RASMUSSEN a R. JAENISCH. Chromosomal silencing and localization are mediated by different domains of Xist RNA. *Nature Genetics* [online]. 2002, **30**(2), 167-174 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1038/ng820. ISSN 1061-4036. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/ng820z>

YANG, F., T. BABAK, J. SHENDURE a C. M. DISTECHE. Global survey of escape from X inactivation by RNA-sequencing in mouse. *Genome Research* [online]. 2010, **20**(5), 614-622 [cit. 2019-05-26]. DOI: 10.1101/gr.103200.109. ISSN 1088-9051. Dostupné z: <http://genome.cshlp.org/cgi/doi/10.1101/gr.103200.109>

YU, Y., F.SIAO, L. Ch. HSU a P. H. YEN. TEX11 Modulates Germ Cell Proliferation by Competing with Estrogen Receptor β for the Binding to HPIP. *Molecular Endocrinology* [online]. 2012, **26**(4), 630-642 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1210/me.2011-1263. ISSN 0888-8809. Dostupné z: <https://academic.oup.com/mend/article/26/4/630/2614943>

ZARAGOZA, M.V., U. SURTI, R. W. REDLINE, E.MILLIE, A. CHAKRAVARTI a T. J. HASSOLD. Parental Origin and Phenotype of Triploidy in Spontaneous Abortions: Predominance of Diandry and Association with the Partial Hydatidiform Mole. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 2000, **66**(6), 1807-1820 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1086/302951. ISSN 00029297. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929707635332>

ZITZMANN, M., M. DEPENBUSCH, J. GROMOLL a E. NIESCHLAG. X-Chromosome Inactivation Patterns and Androgen Receptor Functionality Influence Phenotype and Social Characteristics as Well as Pharmacogenetics of Testosterone Therapy in Klinefelter Patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2004, **89**(12), 6208-6217 [cit. 2019-07-11]. DOI: 10.1210/jc.2004-1424. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2004-1424>